

CONCRESCENCE-PREVENTIVE AGENT

Publication number: JP9296005

Publication date: 1997-11-18

Inventor: TANIHARA MASAO; KAKIMARU YOSHIMI;
SHIMAMURA MICHIIYA; NAKAJIMA TOSHIHIDE

Applicant: KURARAY CO

Classification:

- international: **A61L15/00; A61L31/00; C08B37/00; A61L15/00;
A61L31/00; C08B37/00; (IPC1-7): C08B37/00;
A61L15/00; A61L31/00**

- European:

Application number: JP19960130894 19960426

Priority number(s): JP19960130894 19960426

Report a data error here

Abstract of JP9296005

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a concrecence-preventive agent which not only can be applied to an affected part which has a complicated structure or is positioned at an inner part, but also exhibits excellent concrecence-preventive ability with long term stability, by rendering the agent to contain a polysaccharide having a specific modifying group as an effective component. **SOLUTION:** At least one modifying group selected from the group represented by the formula, wherein group A represents a divalent group which is bonded to -SO₃ H group through an atom therein other than oxygen, and a group in the form of a salt of the group is introduced to a polysaccharide such as alginic acid or hyaluronic acid. A concrecence-preventive agent containing the obtained polysaccharide as an effective component is produced. Group A is not particularly limited as long as it can prevent or suppress the separation of -SO₃ H group or a salt thereof from the polysaccharide by hydrolysis. Illustrative examples of group A include -R<1> -, -NH-R<2> -, -R<3> -NH-R<4> - and -CO-NH-R<5> groups wherein each of R<1> -R<5> represents a divalent hydrocarbon group. The content of the modifying group represented by the formula is suitably 0.05 to 10wt.% in terms of the amount of sulfur atom.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-296005

(43) 公開日 平成9年(1997)11月18日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 8 B	37/00		C 0 8 B 37/00	Z
A 6 1 L	15/00		A 6 1 L 15/00	
	31/00		31/00	T

審査請求 未請求 請求項の数 8 F D (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願平8-130894

(22) 出願日 平成8年(1996)4月26日

(71) 出願人 000001085

株式会社クラレ

岡山県倉敷市酒津1621番地

(72) 発明者 谷原 正夫

岡山県倉敷市酒津1621番地 株式会社クラレ内

(72) 発明者 柿丸 好海

岡山県倉敷市酒津1621番地 株式会社クラレ内

(72) 発明者 嶋村 三智也

岡山県倉敷市酒津2045番地の1 株式会社クラレ内

(74) 代理人 弁理士 辻 良子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癒着防止材

(57) 【要約】

【課題】 水溶液や粘性溶液等の形態にして複雑な構造の患部や奥まった患部にも容易に施すことができ、短期間に癒着防止効果が失われず、生体組織により適度に吸収・排泄されて、所望の期間に亙って安定して高い癒着防止効果を発揮できる癒着防止材を提供すること。

【解決手段】 式； $-A-SO_3H$ （式中、基Aは、基 $-SO_3H$ と直接結合している基A中の原子が酸素以外の原子である2価の基を示す）で表される基及びその塩の形態をなす基から選ばれる少なくとも1種の修飾基を有する多糖類を含む本発明の癒着防止材によって上記の目的が達成される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記の式(I)；

【化1】



〔式中、基Aは、基 $-SO_3H$ と直接結合している基A中の原子が酸素以外の原子である2価の基を示す〕で表される基およびその塩の形態をなす基から選ばれる少なくとも1種の修飾基を有している多糖類を含むことを特徴とする癒着防止材。

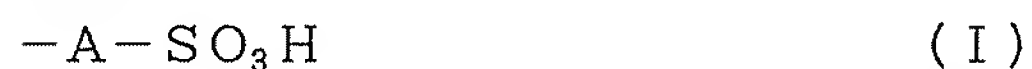
【請求項2】 式(I)で表される基およびその塩の形態の基から選ばれる少なくとも1種よりなる修飾基の含有率が、硫黄原子に換算して、0.05～10重量%である多糖類を含んでいる請求項1の癒着防止材。

【請求項3】 多糖類がアルギン酸、ヒアルロン酸およびそれらの塩のうちの少なくとも1種である請求項1または2の癒着防止材。

【請求項4】 多糖類が疎水性の修飾基を更に有している請求項1～3のいずれか1項の癒着防止材。

【請求項5】 下記の式(I)；

【化2】



〔式中、Aは、基 $-SO_3H$ と直接結合している基A中の原子が酸素以外の原子である2価の基を示す〕で表される基、およびその塩の形態をなす基から選ばれる少なくとも1種の修飾基を有していることを特徴とする多糖類。

【請求項6】 アルギン酸、ヒアルロン酸またはそれらの塩である請求項5の多糖類。

【請求項7】 式(I)で表される基およびその塩の形態の基から選ばれる少なくとも1種よりなる修飾基の含有率が、硫黄原子に換算して、0.05～10重量%である請求項5または6の多糖類

【請求項8】 疎水性の修飾基を更に有している請求項5～7のいずれか1項の多糖類。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、癒着防止材および癒着防止材として有効な多糖類に関する。より詳細には、本発明は特定の基によって修飾した多糖類を含む癒着防止材、および該癒着防止材として有効に用いることのできる多糖類に関するものであり、本発明の癒着防止材は、癒着の防止や低減が必要な生体組織の損傷部への適用が容易であり、安全性に優れており、しかも所望の期間に亘って安定して良好な癒着防止効果を発揮する。

【0002】

【従来の技術】手術、ケガ、その他の理由によって、例えば、腎臓、肝臓、心臓、胃などの内臓や血管、腸、子宮などの生体組織に損傷、炎症などが発生すると、損傷部同士または損傷部と他の組織との癒着が生じて、種々の機能不全を起こし、場合によっては再手術が必要にな

るなどの問題を生じている。

【0003】従来、生体組織の癒着防止に当たっては、損傷部の組織が修復したり治癒したりするまでの期間に亘って損傷部にオキシセルロース製の網を施して、損傷部を他の生体組織や他の生体箇所から隔離して癒着を防止する方法が広く採用されている。しかしながら、オキシセルロース製の癒着防止網は、使い勝手が悪く、生体組織への吸収が遅く、しかも異物反応を生ずるなどの問題があり、十分に満足のゆくものではない。

【0004】また、生体組織の癒着防止などを目的として、上記したオキシセルロースとは別に、多糖類に基づく生体組織用の材料が従来から色々提案されており、そのような従来技術としては、

① ヒアルロン酸またはその誘導体の架橋ゲルからなる生体組織用の成形物（特開昭61-234864号公報）；

② 組成物の癒着および合着を防止するためのインプラントとして使用される、架橋カルボキシ含有ポリサッカライドゲル（特表昭61-502729号公報）；

③ ヒアルロン酸とその他の親水性ポリマーをジビニルスルホン架橋剤で架橋してなる、生体組織の癒着防止やその他の目的で用いられる生体組織用のゲル組成物（特公平2-138346号公報）；

④ 活性化されたヒアルロン酸をアミノ酸やその塩などからなる求核性試薬と反応させて形成してなる、生体組織の癒着防止材などとして使用し得るゲル（特表平3-502704号公報）；

⑤ ヒアルロン酸、ポリアニオン多糖類および活性化剤を用いて形成された、生体組織の癒着防止や薬物のデリバリー用に用いられるゲル（特表平5-508161号公報）；などが知られている。

【0005】しかしながら、上記した①～⑤の従来技術の場合は、その癒着防止材などの生体組織用の材料がいずれも水に不溶性のゲル状物であり、そのため構造の複雑な患部や奥まった位置にある患部への適用や固定が困難であり、また適用した場合は所定の位置からのずれなどを生じ易く、損傷部の癒着防止を安定して行うことができないという欠点を有している。

【0006】また、上記①～⑤の従来技術とは別に、⑥イオン架橋したカルボキシ含有キチン誘導体を含んでなる、希酸性の水性溶液に可溶性癒着防止用材料（特公平7-90041号公報）が提案されている。しかしながら、この⑥の従来技術では、カルボキシ含有キチン誘導体を希酸性の水性溶液に溶解し、その溶液を乾燥してフィルム状にした後、該キチン誘導体中のアミノ基とイオン架橋することができるアニオンを有する酸性の水性溶液で該フィルムを湿潤して架橋させ、その架橋フィルムを水性溶液に溶解して、生体組織の癒着防止用の粘性流体を調製するという極めて複雑な工程が採られており、そのため目的とする癒着防止材を簡単に得ることができ

ないという欠点を有している。

【0007】さらに、上記した①～⑥の従来技術とは別に、⑦アルギン酸ナトリウムの水溶液を主剤とする腹腔内癒着防止剤が知られている（特開昭57-167919号公報）。そして、この⑦の従来技術による場合は、癒着防止材が水溶液であるため患部への適用は容易であるが、アルギン酸ナトリウム（アルギン酸）が生体によって速やかに吸収され排泄されてしまうことにより、短期間の癒着防止効果（隔離効果）しか期待できず、治癒の遅い損傷部には用いることができないという欠点がある。しかも、アルギン酸ナトリウムの水溶液による場合は、物理的な隔離作用のみによって患部の癒着防止がなされるだけであって、線維芽細胞増殖抑制作用を持たないために、線維芽細胞の増殖を抑制して生物学的に癒着を防止するという効果を期待できず、かかる点からも、その癒着防止効果が充分であるとは言えない。

【0008】また、上記した①～⑦の従来技術以外にも、

⑧ ケラタン硫酸、コンドロイチン硫酸、デルマタン硫酸、ヘパラン硫酸などの硫酸エステルから主としてなる生体組織の癒着防止材などに用いる医薬組成物（特表平6-502840号公報）；

⑨ 硫黄含有量が10重量%よりも大であるデキストラン硫酸を含む、癒着防止用などに用いる組成物（特表平6-508356号公報）；が知られている。しかしながら、この⑧および⑨の従来技術による場合は、硫酸基がポリマー中で硫酸エステルの形態をなしていることにより、生体内で分解され易く、短期間のうちにその癒着防止効果が低減したり、失われるという欠点がある。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、水溶液や粘性溶液などのような液状の形態にして用いることができ、それによって複雑な構造の患部や奥まった位置にある患部にも容易に施すことのできる癒着防止材を提供することである。そして、本発明の目的は、物理的な隔離による癒着防止効果と共に、線維芽細胞の増殖を抑制して生物学的な癒着防止効果をも達成することのできる、癒着防止効果に優れる癒着防止材を提供することである。さらに、本発明の目的は、耐加水分解性に優れていて、加水分解によって短期間にその癒着防止効果が失われるという問題がなく、しかも生体組織によって適度に吸収・排泄され、それによって所望の期間に亘って安定してその癒着防止効果を発揮することのできる、生物学的に安全な癒着防止材を提供することである。

そして、本発明の目的は、上記した優れた特性を備える癒着防止材に有効に用いることのできる、生体適合性に優れる多糖類を提供することである。

【0010】

【課題を解決するための手段】上記の目的を達成すべく本発明者らは、安全性の点を考慮しつつ、従来から生体

組織用の癒着防止材として用いられている多糖類について、その素材面での改質について種々検討を重ねてきた。その結果、多糖類中に、式； $-SO_3H$ で表される基および／またはその塩の形態の基を、その基が酸素原子に直接結合しない結合形式で導入すると、その基によって修飾された多糖類が、ゲルを形成せず、水性溶液や粘性流体の形態で使用することができ、そのため複雑な構造の患部や奥まった位置にある患部にも容易に施し得ることを見出した。さらに、本発明者らは、上記した基で修飾した多糖類が、良好な生体適合性を有していること、しかも物理的な隔離による癒着防止機能と共に、線維芽細胞増殖抑制による生物学的な癒着防止効果をも有していること、その上耐加水分解性に優れていて短期間にその癒着防止効果が失われず、所望の期間に亘って安定した癒着防止効果を発揮することなどを見出した。したがって、本発明は上記した種々の知見に基づいて本発明を完成されたのである。

【0011】すなわち、本発明は、下記の式（I）；

【0012】

【化3】

$-A-SO_3H$ (I)

【式中、基Aは、基 $-SO_3H$ と直接結合している基A中の原子が酸素以外の原子である2価の基を示す】で表される基およびその塩の形態をなす基から選ばれる少なくとも1種の修飾基を有している多糖類を含むことを特徴とする癒着防止材である。

【0013】そして、本発明は、下記の式（I）；

【0014】

【化4】

$-A-SO_3H$ (I)

【式中、Aは、基 $-SO_3H$ と直接結合している基A中の原子が酸素以外の原子である2価の基を示す】で表される基、およびその塩の形態をなす基から選ばれる少なくとも1種の修飾基を有していることを特徴とする多糖類である。

【0015】

【発明の実施の形態】以下に本発明について詳細に説明する。本発明でいう「癒着防止材」とは、手術、ケガ、その他の原因によって、生体組織のいずれかに損傷、炎症、その他の疾患が生じた際に、それらの患部に施して、損傷部同士や損傷部と他の組織との癒着を防止したり低減するために用いられる材をいい、施す生体組織の種類や状態などは特に制限されない。また、本発明の癒着防止材の形態も特に制限されず、例えば生理的に受容な溶液または分散液；粘性液体；フィルムやその他の固形状物；布帛、紙、プラスチックフィルムなどの基材に塗布したり含浸させたもの；粉末；ペーストなどのいずれの形態であってもよい。そのうちでも、患部の適用の容易性などの点から、本発明の癒着防止材は、生理的に受容な溶液または分散液、粘性流体などの液状形態で好

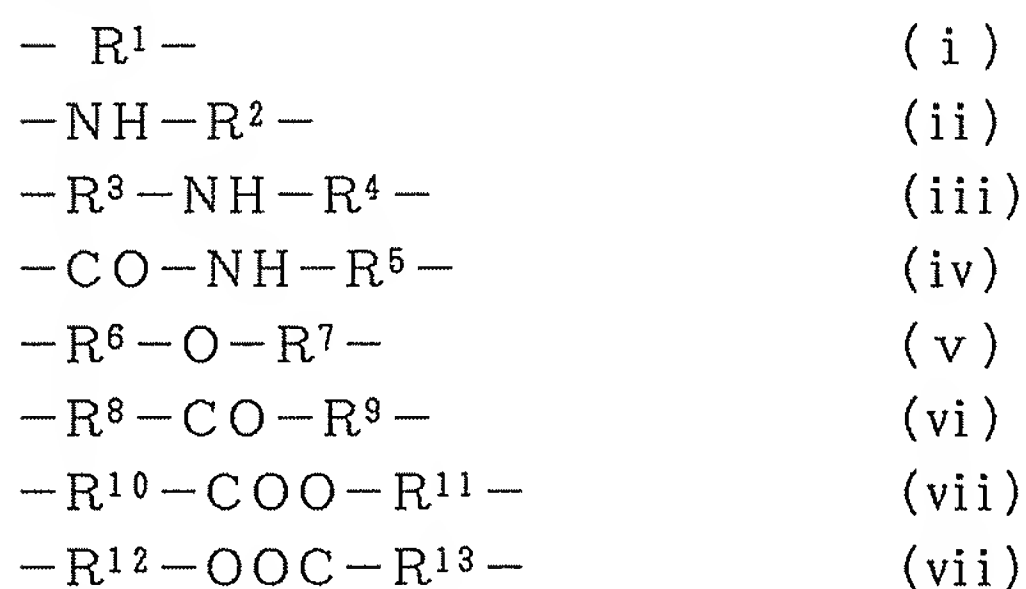
ましく用いられる

【0016】本発明の癒着防止材を構成する多糖類は、上記の一般式(I)で表される基〔以下これを「修飾基(1)」ということがある〕および/またはその塩の形態の基で修飾されていることが必要であり、修飾基(1)およびその塩の形態の基では、その基-SO₃Hまたは基-SO₃M(式中Mは塩を形成し得る陽イオン)が、酸素原子に直接結合しないようにして基Aを介して多糖類に結合している。すなわち、修飾基(1)が硫酸基(-O-SO₃H)またはその塩の形態の基(-O-SO₃M)の形態を採らずに多糖類に結合している。それによって、修飾基(1)における基-SO₃Hまたはその塩の形態の基-SO₃Mが、加水分解によって多糖類から離脱することが防止または低減されるので、その癒着防止効果が短期間に失われない。生体組織の種類などにもよるが、癒着の防止を円滑に行うためには、一般に7日間から2カ月間程度の期間に亘って癒着防止材が患部に存在することが望ましく、基-SO₃Hまたはその塩の形態の基-SO₃Mが上記した基Aを介して加水分解されにくい結合形式で多糖類に結合されている本発明の多糖類は、癒着防止に必要とされる上記した所望の期間に亘ってその癒着防止効果を安定して発揮できる。

【0017】修飾基(1)における基Aは、基-SO₃Hまたはその塩の形態の基-SO₃Mが加水分解によって多糖類から離脱するのを防止または抑制し得る基であればいずれでもよく特に制限されない。何ら限定されるものではないが、修飾基(1)における基Aの例としては、下記の一般式で示される基を挙げることができる。

【0018】

【化5】



(式中、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹、R¹²およびR¹³はそれぞれ独立して2価の炭化水素基を示し、前記した炭化水素基はいずれも場合により水酸基、ハロゲン原子、ニトリル基、スルホン酸基などで置換されていてもよい。)

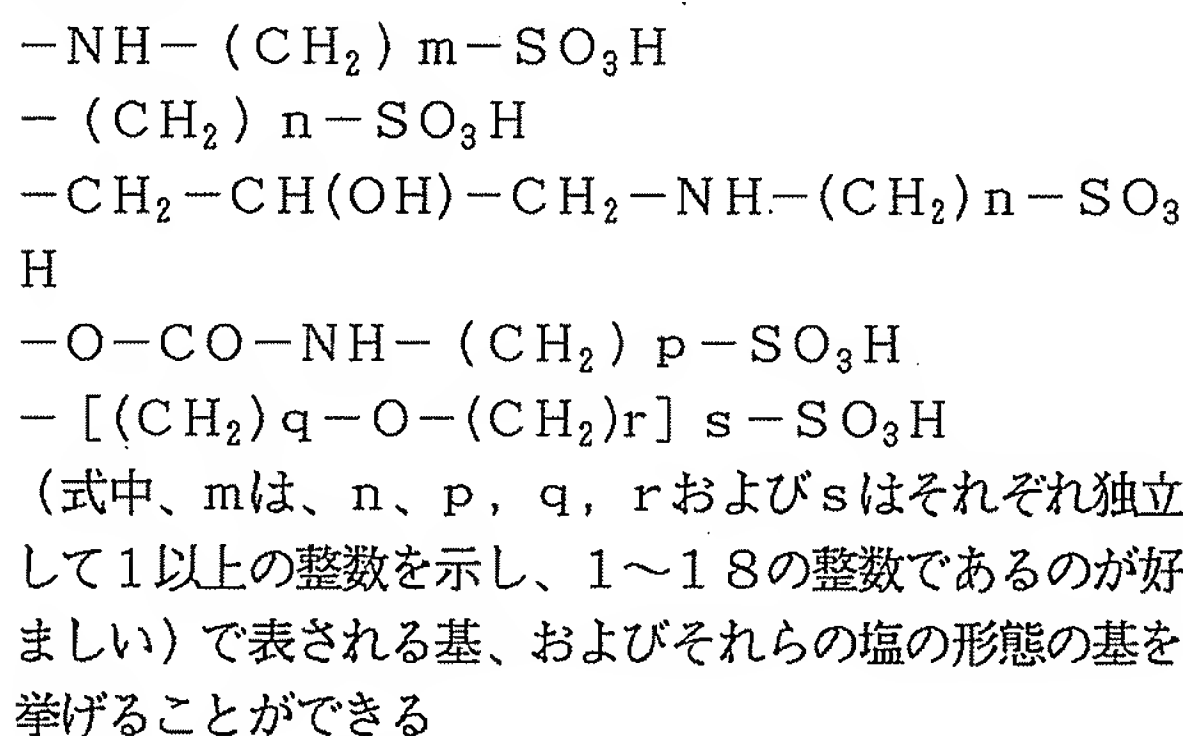
【0019】そして、上記(i)～(viii)などで表される基Aでは、その炭化水素基R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹、R¹²及びR¹³における炭素原子数、それらの炭化水素基に結合させる置換基の種類や数などを調節したり、選択することによって、修飾基(1)により修飾されている本発明における

多糖類の親水性の程度などを調節することができる。

【0020】より具体的には、基Aを有する修飾基(1)の構造で示すと、修飾基(1)の好ましい例として、下記に示す基；

【0021】

【化6】



【0022】本発明で用いる多糖類は、上記した修飾基(1)またはその塩の形態の基のうちの1種のみを有していても、または2種以上を有していてもよい。さらに、本発明で用いる多糖類は、酸の形態である上記の修飾基(1)のみを有していても、塩の形態である修飾基(1)のみを有していても、またはその両方を有していてもよい。そのうちでも、本発明で用いる多糖類は、その修飾基(1)が、式-NH-CH₂CH₂-SO₃H；式-NH-CH₂CH₂-SO₃Naで示される基であるのがより好ましく、その場合には、安全性、安定性、癒着防止能、などの点でより優れた癒着防止材を得ることができる。

【0023】そして、本発明の多糖類では、修飾基(1)および/またはその塩の形態の基の多糖類への結合形式は、生理的に許容され得る結合形式であって且つ修飾基(1)が加水分解などによって容易に多糖類から離脱しないような結合形式であればいずれもよいが、一般には修飾基(1)が、多糖類中の水酸基および/またはカルボキシル基と、アミド結合、エステル結合、エーテル結合、ウレタン結合などの結合形式を採って多糖類に結合しているのが好ましい。

【0024】また、修飾基(1)中の基-SO₃Hが塩の形態の基-SO₃Mである場合は、生理的に許容される塩であればいずれでもよく、例えば、Mとしては、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アンモニウムなどの陽イオンを挙げることができる。

【0025】そして、本発明の多糖類では、修飾基(1)およびその塩の形態の基の含有率〔複数種の修飾基(1)を有している場合はその合計含有率〕が、該修飾基(1)などを含めた多糖類の全重量に基づいて、硫黄原子に換算して、0.05～10重量%であるのが好ましく、0.1～5重量%であるのがより好ましい。硫黄原子の含有率が前記した0.05重量%未満であると、有効な癒着防止効果が発揮されにくくなり、一方1

0重量%を超えると生体内での吸収・排泄が不良となって毒性を発現する場合がある。

【0026】本発明では、修飾基(1)を結合させる多糖類として、それ自身およびその分解物が生体に無害で且つ生体内で吸収・排泄されるものであればいずれも使用できる。そのような多糖類としては、例えばデンプンなどの単純多糖類、アルギン酸などのポリウロン酸類、ヒアルロン酸などのムコ多糖類、キチンなどのポリグリコサミン類などを挙げることができ、それらの多糖類は単独で使用してもまたは2種以上を併用してもよい。また、多糖類は生体適合性のある塩の形態になっていてもよい。そのうちでも、本発明では、無害性および吸収・排泄性に優れている点から、アルギン酸、ヒアルロン酸および/またはそれらの生体適合性の塩が好ましく用いられる。また、使用する多糖類の分子量なども特に制限されないが、分子量が1万から1,000万の範囲のものをを用いるのが、安定性、効果の点から好ましい。

【0027】また、本発明で用いる多糖類は、修飾基(1)と共に、癒着防止が必要な患部での物理的な隔離作用をより良好に発揮させたり、生体内吸収性を制御するなどの目的で他の基によって修飾されていてもよい。修飾基(1)と併存させる他の修飾基は、隔離作用の向上機能や生体内吸収性の制御作用を有する基であればどのような修飾基であってもよいが、疎水性基からなる修飾基を多糖類に導入すると、多糖類をゲル化させることなくその粘度の増大および生体内安定性の向上を図ることが可能である。その場合に、一般に粘度の増大は疎水性基間の疎水性結合による架橋によってもたらされる。また、多糖類中に疎水性基を導入することによってその生体内安定性が向上するが、疎水性基の導入量が多すぎると生体内での吸収・排泄速度が遅くなって毒性を発現する場合があるので注意を要する。多糖類に導入する疎水性基としては、生体に対する安全性の点から、脂肪酸、リン脂質、疎水性アミノ酸またはそれらの誘導体などに由来する疎水性基が好ましく、これらの疎水性基のうちの1種または2種以上を導入することができる。そのうちでも、疎水性アミノ酸に由来する疎水性基の導入がより好ましい。疎水性アミノ酸またはその誘導体に由来する疎水性基としては、例えばロイシン、イソロイシン、ノルロイシン、フェニルアラニン、バリンなどのアミノ酸、それらのアルキルエステル、それらのアルキルアミドなどに由来する疎水性基を挙げることができる。疎水性基の種類、疎水性基における疎水性の度合いなどによって異なり得るが、例えば疎水性アミノ酸に由来する疎水性基を多糖類中に導入する場合は、多糖類を構成する単糖類の1モルに対して、疎水性基を0.2モル以下の割合で疎水性基を導入するのが好ましい。

【0028】修飾基(1)を有する多糖類、または修飾基(1)と疎水性基を有する多糖類の製造法は特に制限されず、修飾基(1)や疎水性基の導入に用いる化合物

の種類に応じて適当な製造法を採用すればよい。例えば、修飾基(1)が、多糖類中の水酸基、カルボキシル基および/またはアミノ基と、アミド結合、エステル結合またはエーテル結合をなして多糖類に結合している多糖類の場合は、一方の端部に基-SO₃Hまたは基-SO₃Mを有し且つもう一方の端部にアミノ基、水酸基またはカルボキシル基を有する、修飾基(1)導入用の化合物、またはそれらのアミド形成性誘導体、エステル形成誘導体、エーテル形成性誘導体を、多糖類に添加して、必要に応じて脱水縮合剤、縮合助剤、縮合触媒などを使用して、多糖類中の水酸基および/またはカルボキシル基と、上記した修飾基(1)導入用の化合物中のアミノ基、水酸基、カルボキシル基またはそれらの誘導体基との間に縮合反応を行わせることによって、多糖類中に修飾基(1)を導入することができる。その際に用い得る上記した脱水縮合剤、縮合助剤、縮合触媒としては、例えば、2-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩などの水溶性カルボジイミド、N-ヒドロキシコハク酸イミド、トリエチルアミンやジイソプロピルエチルアミンなどの3級アミンなどを挙げることができる。

【0029】さらに上記した方法以外にも、一方の端部に基-SO₃Hまたは基-SO₃Mを有し且つもう一方の端部にイソシアネート基またはエポキシ基を有する修飾基(1)導入用の化合物を多糖類に添加して、多糖類中の水酸基、カルボキシル基および/またはアミノ基と、修飾基(1)導入用の化合物中のイソシアネート基またはエポキシとの間に反応を行わせて、上記した修飾基(1)を有する多糖類を製造することができる。

【0030】また、多糖類に疎水性基、例えば脂肪酸、リン脂質、疎水性アミノ酸などに由来する疎水性基を導入する場合も、修飾基(1)を多糖類に導入する上記したのと同様の方法によって、疎水性基導入用の化合物中のカルボキシル基、水酸基、アミノ基と、多糖類中の水酸基、カルボキシル基またはアミノ基との間でアミド結合、エステル結合、エーテル結合などを形成させるようにすればよい。

【0031】多糖類への上記した修飾基(1)の導入、または修飾基(1)と疎水性基の導入は、一般に、多糖類を水性媒体中に可溶な形態にしたもの(例えば多糖類のナトリウム塩などのような多糖類の水溶性塩など)を用いて、それを水性媒体中に溶解し、その水性溶液に修飾基(1)導入用の化合物、または修飾基(1)導入の化合物と疎水性基導入用の化合物を添加し、好ましくは上記した脱水縮合剤、縮合助剤および/または縮合触媒の存在下に、約0~50℃の温度で反応を行わせると、目的とする修飾基(1)、または修飾基(1)と疎水性基を多糖類中に円滑に結合させることができる。

【0032】本発明の癒着防止材は適当な形態にして用いることができ、上記したように、例えば生理的に受容

な溶液または分散液；粘性液体；フィルム、シート、膜、粒状物、塊状物やその他の固形状物；布帛、紙、プラスチックフィルムなどの基材に塗布したり含浸させたもの；粉末；ペーストなどの形態で利用することができる。そして、前記したうちでも、本発明の癒着防止材を生理的に受容な溶液または分散液の形態にして用いると、複雑な構造の患部や奥まった位置にある患部などであっても適用が容易に行われて、その癒着防止効果を十分に発揮することができる。

【0033】さらに、本発明の癒着防止材は、生体内安定性の向上、粘度の調節などの目的で、必要に応じて、塩化ナトリウム、塩化カルシウム、塩化マグネシウムなどの無機塩類；エチレングリコール、プロピレングリコール、グリセリン、ポリエチレングリコールなどの多価アルコール類などを含有していてもよい。また、本発明の癒着防止材は、治癒の促進、細菌感染の防止などの目的で、必要に応じて、構造蛋白質（コラーゲン、フィブロネクチンなど）、消毒剤、抗生剤（例えばペニシリンなど）、抗菌剤（例えばオフロキサシンなど）、血行改善薬（例えばアクトシン、PGEIなど）、酵素阻害剤（例えばウリナスタチン、TIMPなど）、増殖因子（例えばPDGF、FGFなど）、ステロイド剤、抗炎症剤（例えばインドメタシンなど）、各種アミノ酸、ビタミン類などの1種または2種以上を含有していてもよい。

【0034】また、本発明の癒着防止材は、例えば、 γ 線滅菌、電子線滅菌、オートクレーブ滅菌、エチレンオキシドガス滅菌などの滅菌処理が可能であり、それらの処理を施すことによって安全性を高めることができる。

【0035】

【実施例】以下に本発明を実施例などにより具体的に説明するが、本発明はそれにより何ら限定されない。

【0036】《実施例 1》

(1) アルギン酸ナトリウム（和光純薬工業株式会社製、500～600cp）を濃度が1重量%になるようにして300mlの注射用水（大塚製薬株式会社製）に溶解した。これに、タウリン（和光純薬工業株式会社製）1.25gおよび水溶性カルボジイミド（WSCD・HCl；株式会社ペプチド研究所製）4gを加えて溶解し、4℃の温度に保ちながら2日間攪拌下に反応させた。その後、注射用水に対して4℃の温度で7日間透析した（VISKASE SALES CORP.製の透析膜を使用；1回当たり1,000mlの注射用水を使用して13回注射用水を交換）。

(2) 上記(1)で得られた反応生成物を凍結乾燥して、固形物約3.1gを得た。この固形物をIR分析にかけたところ、 1561 cm^{-1} の位置に、アルギン酸のカルボキシル基とタウリンのアミノ基との間にアミド結合が形成され且つタウリンのスルホン酸基がナトリウム

塩の形態になっている、基 $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{Na}$ に相当する吸収があり、基 $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{Na}$ で修飾されたアルギン酸であることが確認された。

(3) また、上記(2)で得られた、式 $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{Na}$ で修飾されたアルギン酸（凍結乾燥物）の一部を採って燃焼フラスコ中で分解（ O_2 雰囲気下で燃焼後、水に吸収）した後、イオンクロマトアナライザー（横河電機社製「IC500S」）を用いて硫黄の含有率を定量したところ、0.38重量%であった。

(4) 上記(2)で得られた式 $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{Na}$ で修飾されたアルギン酸（凍結乾燥物）を、25kGyの γ 線で滅菌処理した後、5重量%の濃度となるように生理食塩水（大塚製薬株式会社製）に溶解して癒着防止材を製造した。

【0037】《実施例 2》

(1) 鶏の鶏冠から抽出したヒアルロン酸のナトリウム塩（キュービー株式会社製、分子量約2,500,000）を濃度が0.5重量%になるようにして200mlの注射用水（大塚製薬株式会社製）に溶解した。これに、タウリン（和光純薬工業株式会社製）1.25gおよび水溶性カルボジイミド（WSCD・HCl；株式会社ペプチド研究所製）4gを加えて溶解し、4℃の温度に保ちながら2日間攪拌下に反応させた。その後、注射用水に対して4℃で7日間透析した（VISKASE SALES CORP.製の透析膜を使用；1回当たり1,000mlの注射用水を使用して13回注射用水を交換）。

(2) 上記(1)で得られた反応生成物を凍結乾燥して、固形物約1.2gを得た。この固形物をIR分析にかけたところ、 1562 cm^{-1} の位置に、ヒアルロン酸のカルボキシル基とタウリンのアミノ基との間にアミド結合が形成され且つタウリンのスルホン酸基がナトリウム塩の形態になっている、基 $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{Na}$ に相当する吸収があり、基 $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{Na}$ で修飾されたヒアルロン酸であることが確認された。

(3) また、上記(2)で得られた、式 $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{Na}$ で修飾されたヒアルロン酸（凍結乾燥物）の一部を採って実施例1と同様にして硫黄の含有率を定量したところ、0.17重量%であった。

(4) 上記(2)で得られた式 $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{Na}$ で修飾されたヒアルロン酸（凍結乾燥物）を、25kGyの γ 線で滅菌処理した後、2.5重量%の濃度となるように生理食塩水（大塚製薬株式会社製）に溶解して癒着防止材を製造した。

【0038】《実施例 3》

(1) 実施例1で使用したのと同じアルギン酸ナトリウムを濃度が1重量%になるようにして100mlの注射用水（大塚製薬株式会社製）に溶解した。これに、タ

ウリン（和光純薬工業株式会社製）0.25g、ロイシンエチルエステル硫酸塩（株式会社ペプチド研究所製）1g、N-ヒドロキシコハク酸イミド（株式会社ペプチド研究所製）0.6g、トリエチルアミン（ナカライテスク株式会社製）および実施例1で使用したのと同じ水溶性カルボジイミド2gを加えて溶解し、4℃の温度に保ちながら2日間攪拌下に反応させた。その後、注射用水に対して4℃で7日間透析した（VISKASE SALES CORP. 製の透析膜を使用；1回当たり1,000mlの注射用水を使用して13回注射用水を交換）。

（2） 上記（1）で得られた反応生成物を凍結乾燥して、固形物約1.3gを得た

この固形物をIR分析にかけたところ、 1561 cm^{-1} の位置に、アルギン酸のカルボキシル基とタウリンのアミノ基との間にアミド結合が形成され且つタウリンのスルホン酸基がナトリウム塩の形態になっている、基- $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{Na}$ に相当する吸収があり、更に 1737 cm^{-1} の位置に、アルギン酸のカルボキシル基とロイシンエチルエステルのアミノ基との間にアミド結合が形成されたロイシンエチルエステルに相当する吸収があり、基- $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{Na}$ およびロイシンエチルエステル由来の基で修飾されたアルギン酸であることが確認された。

（3） また、上記（2）で得られた、式- $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{Na}$ および疎水性基で修飾されたアルギン酸（凍結乾燥物）の一部を採って実施例1と同様にして硫黄の含有率を定量したところ、0.74重量%であった。

（4） 上記（2）で得られた式- $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{Na}$ と、ロイシンエチルエステルに由来する疎水性基で修飾されたアルギン酸（凍結乾燥物）を、25kGyの γ 線で滅菌処理した後、5重量%の濃度となるように生理食塩水（大塚製薬株式会社製）に溶解して癒着防止材を製造した。

【0039】《実施例 4》

（1） 実施例2で使用したのと同じヒアルロン酸のナトリウム塩を濃度が0.5重量%になるようにして100mlの注射用水（大塚製薬株式会社製）に溶解した。これに、タウリン（和光純薬工業株式会社製）0.375g、ロイシンのエチルエステル硫酸塩（株式会社ペプチド研究所製）0.6g、N-ヒドロキシコハク酸イミド（株式会社ペプチド研究所製）0.6g、ジイソプロピルトリエチルアミン（和光純薬工業株式会社製）および実施例1で使用したのと同じ水溶性カルボジイミド2gを加えて溶解し、4℃の温度に保ちながら2日間攪拌下に反応させた。その後、注射用水に対して4℃の温度で7日間透析した（VISKASE SALES CORP. 製の透析膜を使用；1回当たり1,000mlの注射用水を使用して13回注射用水を交換）。

（2） 上記（1）で得られた反応生成物を凍結乾燥して、固形物約0.6gを得た。この固形物をIR分析にかけたところ、 1558 cm^{-1} の位置に、ヒアルロン酸のカルボキシル基とタウリンのアミノ基との間にアミド結合が形成され且つタウリンのスルホン酸基がナトリウム塩の形態になっている、基- $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{Na}$ に相当する吸収があり、更に 1706 cm^{-1} の位置に、ヒアルロン酸のカルボキシル基とロイシンエチルエステルのアミノ基との間にアミド結合が形成されたロイシンエチルエステルに相当する吸収があり、基- $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{Na}$ およびロイシンエチルエステル由来の基で修飾されたヒアルロン酸であることが確認された。

（3） また、上記（2）で得られた、式- $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{Na}$ および疎水性基で修飾されたヒアルロン酸（凍結乾燥物）の一部を採って実施例1と同様にして硫黄の含有率を定量したところ、0.23重量%であった。

（4） 上記（2）で得られた式- $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{Na}$ と、ロイシンエチルエステルに由来する疎水性基で修飾されたヒアルロン酸（凍結乾燥物）を、25kGyの γ 線で滅菌処理した後、5重量%の濃度となるように生理食塩水（大塚製薬株式会社製）に溶解して癒着防止材を製造した。

【0040】《比較例 1》

（1） 実施例1で使用したのと同じアルギン酸ナトリウムを濃度が1重量%になるようにして300mlの注射用水（大塚製薬株式会社製）に溶解した。これを、注射用水に対して4℃の温度で7日間透析した（VISKASE SALES CORP. 製の透析膜を使用；1回当たり1,000mlの注射用水を使用して13回注射用水を交換）。

（2） 上記（1）で得られた生成物を凍結乾燥して、固形物約2.7gを得た。この固形物の一部を採って実施例1と同様にして硫黄の含有率を定量したところ、0重量%であった。

（3） 上記（2）で得られアルギン酸の凍結乾燥物を、25kGyの γ 線で滅菌処理した後、5重量%の濃度となるように生理食塩水（大塚製薬株式会社製）に溶解して癒着防止材を製造した。

【0041】《比較例 2》

（1） 実施例2で使用したのと同じヒアルロン酸のナトリウム塩を濃度が0.5重量%になるようにして200mlの注射用水（大塚製薬株式会社製）に溶解した。これを、注射用水に対して4℃の温度で7日間透析した（VISKASE SALES CORP. 製の透析膜を使用；1回当たり1,000mlの注射用水を使用して13回注射用水を交換）。

（2） 上記（1）で得られた生成物を凍結乾燥して、固形物約0.8gを得た。この固形物の一部を採って実

施例1と同様にして硫黄の含有率を定量したところ、0重量%であった。

(3) 上記(2)で得られヒアルロン酸の凍結乾燥物を、25kGyの γ 線で滅菌処理した後、2.5重量%の濃度となるように生理食塩水(大塚製薬株式会社製)に溶解して癒着防止材を製造した。

【0042】《試験例 1》

(1) 雄SDラットを各群6匹ずつ7群準備し(平均体重約250g)、第1群~第6群のラットはそれぞれ実施例1~4および比較例1~2の試験に使用し、第7群のラットは対照用として使用した。

(2) 上記(1)で準備した第1群~第7群のラットの盲腸の漿膜をガーゼで摩擦して、およそその1/2を剥離した。

(3) 上記(2)で盲腸の漿膜を剥離したラットのうち、第1群~第6群のラットについては、漿膜を剥離した盲腸の周囲に、実施例1~4および比較例1~2で得られたそれぞれの癒着防止材を、ラット1匹当たり約1

mlの割合で各群6匹ずつ塗布した。

(4) 第1群~第6群のラットについては、上記(3)の癒着防止材の塗布後1週間目に剖検して、癒着状態を肉眼で観察し、下記の表1に示す評価基準にしたがって点数評価し、6匹の平均値を採ったところ、各群の癒着状態は下記の表2に示すとおりであった。また、剖検したラットの全身症状および内臓の状態を肉眼で観察して、下記の表1に示す評価基準にしたがって点数評価し、6匹の平均値を採ったところ、下記の表2に示すとおりであった。

(5) また、第7群のラットには実施例1~4および比較例1~2の癒着防止材のいずれをも塗布しないで1週間後に剖検して、癒着状態、並びに全身症状および内臓等の状態を肉眼で観察し、下記の表1に示す評価基準にしたがって点数評価し、6匹の平均値を採ったところ、下記の表2に示すとおりであった。

【0043】

【表1】

癒着状態並びに全身症状と内臓の状態の評価基準

○癒着状態:

- 0点: 癒着が全く生じておらず、極めて良好な癒着防止効果を有している。
- 1点: 内臓間または内臓と腹膜間に癒着が1カ所認められるが、ほぼ良好な癒着防止効果を有している。
- 2点: 内臓間または内臓と腹膜間に、2カ所の癒着が生じており、癒着防止効果がやや少ない。
- 3点: 内臓間または内臓と腹膜間に癒着が3カ所以上認められ、癒着防止効果が全くない

○全身症状と内臓の状態:

- 0点: 全身と内臓に全く異常が生じていない。
- 1点: 全身と内臓にほぼ異常がない。
- 2点: 全身と内臓に、炎症などの異常が多少発生している。
- 3点: 全身と内臓に、炎症などの異常が多く発生している。

【0044】

【表2】

癒着防止材の内容 ¹⁾		癒着状態	全身症状と内臓の状態
実施例1	a-1	2.38	0
実施例2	b-1	2.67	0
実施例3	a-2	2.16	0
実施例4	b-2	1.83	0
比較例1	a-3	2.78	0.67
比較例2	b-3	2.92	0.33
対照例	—	2.80	0.50

1) 癒着防止材の内容:

- a-1: 基-NH-CH₂-CH₂-SO₃Naで修飾されたアルギン酸の生理食塩水溶液
- b-1: 基-NH-CH₂-CH₂-SO₃Naで修飾されたヒアルロン酸の生理食塩水溶液

a-2: 基-NH-CH₂-CH₂-SO₃Naとロイシンエチルエステル由来の疎水性基で

修飾されたアルギン酸の生理食塩水溶液

b-2: 基-NH-CH₂-CH₂-SO₃Naとロイシンエチルエステル由来の疎水性基で

修飾されたヒアルロン酸の生理食塩水溶液

a-3: アルギン酸ナトリウムの生理食塩水溶液

b-3: ヒアルロン酸ナトリウムの生理食塩水溶液

【0045】上記の表2の結果から、修飾基(1)の1種である基-NH-CH₂-CH₂-SO₃Naで修飾されたアルギン酸またはヒアルロン酸を含む実施例1~4の癒着防止材の場合は、良好な癒着防止材を示し、しかも全身症状や内臓状態に全く異常が無く安全性に優れていることがわかる。それに対して、基-NH-CH₂-CH₂-SO₃Naで修飾されていないアルギン酸またはヒアルロン酸を含む比較例1および2の材を用いた場合は、癒着防止効果を全く示さないことがわかる。さらに、上記の表2の結果から、修飾基(1)の1種である基-NH-CH₂-CH₂-SO₃Naと疎水性基の両方で修飾したアルギン酸またはヒアルロン酸を含む実施例3および実施例4の癒着防止材では、その癒着防止効果が一層高いことがわかる。

【0046】

【発明の効果】上記した修飾基(1)で修飾されている多糖類を含む本発明の癒着防止材は、水溶液や粘性溶液

などのような液状の形態にして用いることができるので、複雑な構造の患部や奥まった位置にある患部にも容易に施すことができる。そして、本発明の癒着防止材は、物理的な隔離による癒着防止機能と共に、線維芽細胞の増殖を抑制して生物学的な癒着防止機能を有していることにより、良好な癒着防止効果も奏する、さらに、本発明の癒着防止材は耐加水分解性に優れていて、加水分解によって短期間にその癒着防止効果が失われず、しかも生体組織によって適度に吸収・排泄されるので、所望の期間に亘って安定してその癒着防止効果を発揮することのできる。その上、本発明の癒着防止材は生物学的に安全であって、生体適合性に優れている。また、本発明において、多糖類が上記した修飾基(1)と共に疎水性基で修飾されているものを用いる場合には、生体による吸収・排泄などの一層良好に調節しながら、その癒着防止効果をより向上させることができる。

フロントページの続き

(72)発明者 中島 俊秀

岡山県倉敷市酒津1621番地 株式会社クラ
レ内